

Composteo en cajones de madera como pretratamiento del sustrato para cultivar *Pleurotus ostreatus*

Brenda M. Barrios Espinoza¹

Lilia Moreno Ruiz²

José Ernesto Sánchez²

¹Instituto Tecnológico de Tapachula, Km. 2.5 carr. a Puerto Madero Tapachula, Chiapas, México

²El Colegio de la Frontera Sur, Apdo Postal 36. Tapachula, Chiapas, 30700 México

Composting in wooden boxes as substrate pretreatment for cultivating *Pleurotus ostreatus*

Abstract. In the State of Chiapas, Mexico two methods are used for oyster mushroom substrate preparation: alkaline immersion and steam pasteurization. The present work had the objective of comparing the alkaline immersion and the steam pasteurization methods to an alternative method of composting the substrate and to evaluate the yield capacity of three strains of *P. ostreatus* cultivated on a substrate pasteurized by composting. The statistical analysis separated two groups with significant differences among them ($p=0.0007$): Group A formed by the composting method (Biological efficiency BE=112%, Production rate PR=1.87% and yield Y=0.16) and the steam pasteurization method (BE=102%, PR=1.85% and Y= 0.15), and group B formed by the alkaline immersion method (BE, PR and Y of 62%, 1.07 % and 0.10, respectively). Crop evaluation of the three strains under study showed no difference among strains ($p= 0.93$).

Key words: Alkaline immersion, steam pasteurization, substrate selectivity, oyster mushroom, evaluation of strains.

Resumen. En Chiapas se utilizan dos métodos para preparar el sustrato de *Pleurotus ostreatus*: la inmersión alcalina o la pasteurización con vapor. El objetivo de este trabajo fue comparar estos métodos con el método de composteo, como técnica alternativa y evaluar la capacidad de producción de tres cepas de esta especie en un sustrato pasteurizado por composteo. El análisis estadístico separó dos grupos considerados estadísticamente diferentes ($p=0.0007$): En el grupo A, quedaron clasificados como similares el método de composteo (Eficiencia biológica EB=112%, Tasa de producción TP=1.87% y rendimiento R=0.16) y el método de pasteurización por vapor (EB=102%, TP=1.85% y R= 0.15) y en el grupo B, la inmersión alcalina con una EB, TP y R de 62%, 1.07% y 0.10, respectivamente. En la evaluación de la producción de las cepas de *P. ostreatus*, no se encontraron diferencias estadísticas entre ellas ($p= 0.93$).

Palabras clave: Inmersión alcalina, pasteurización por vapor, selectividad del sustrato, setas, evaluación de cepas.

Received 23 February 2009; accepted 16 June 2009.

Recibido 23 de febrero 2009; aceptado 16 de junio 2009.

Introducción

En la actualidad, en Chiapas, el método más utilizado para la preparación del sustrato para la producción de setas es la

*Autor para correspondencia: J. E. Sánchez
esanchez@ecosur.mx*

inmersión alcalina (Sántis, 2007). Este es un método sencillo y de bajo costo, que consiste en sumergir el sustrato por 12-48 h en agua con cal hidratada y que funciona bien a baja escala; pero que tiene como inconveniente importante el otorgar una baja efectividad en la eliminación de ciertos contaminantes bacterianos y porque no impide la proliferación de los huevos y pupas de moscas que pudieran venir en el sustrato

(Contreras *et al.*, 2004).

Otro método de tratamiento -el más utilizado comercialmente a nivel mundial- consiste en aplicar vapor sobrecalentado al sustrato para elevar su temperatura a 60-80°C por un tiempo variable, generalmente entre 6 y 12 h, o también una temperatura de 100°C por una hora (Muez Ororbía y Pardo Núñez, 2002). Este método proporciona una mejor protección en cuanto a contaminantes, pero su costo es mayor y es, por lo mismo, poco accesible en algunas comunidades rurales del país.

Hernández *et al.* (2003) sugirieron como método de preparar un sustrato selectivo para cultivar *Pleurotus ostreatus*, un cajón de madera de 75 x 75 x 75 cm para realizar un composteo de tres días. Con un sustrato elaborado de esta manera, obtuvieron valores de eficiencia biológica de 93% en tres cosechas, sin embargo, el inconveniente observado posteriormente en nuestra planta piloto con este método ha sido que el volumen y el peso del sustrato utilizado en un cajón de tales dimensiones (75 kg de peso húmedo) no asegura una temperatura de pasteurización uniforme y adecuada para toda la masa que se pretende pasteurizar. Así, sólo el sustrato ubicado en la parte central y superior del cajón de composteo permite obtener una buena producción; mientras que las partes inferiores y laterales no alcanzan la temperatura adecuada y por lo mismo, al utilizar esta parte del sustrato para cultivar setas, se presentan problemas de baja producción y/o de falta de crecimiento del hongo que se cultiva.

La preparación de un sustrato selectivo para cultivar *Pleurotus* spp. requiere de una materia prima con alto contenido en lignina, pH superior al neutro y bajo contenido de nitrógeno y de carbohidratos; así mismo, requiere de un proceso térmico que proporcione una temperatura suficiente, pero no excesiva, para eliminar o inhibir los organismos que potencialmente pueden ser nocivos para el cultivo de setas (Stolzer y Grabbe, 1991). La inmersión alcalina es efectuada normalmente a temperatura ambiente y no suministra calor,

por lo que su selectividad se basa únicamente en proporcionar alcalinidad a la materia prima (Contreras *et al.*, 2004; De León *et al.*, 2004). La pasteurización con vapor pareciera ser la mejor técnica comercial disponible hasta la fecha; sin embargo, el consumo de energía para suministrar vapor es elevado además de que requiere equipo adecuado, lo que incrementa la inversión. Dados los estudios previos sobre el composteo como tratamiento para preparar el sustrato para cultivar *P. ostreatus* (Hernández *et al.*, 2003; Villa-Cruz *et al.*, 1999) se visualiza éste como una técnica alternativa, siempre y cuando se controlen las condiciones para utilizar el calor generado por la actividad microbiana que de manera natural se desarrolla durante el proceso. Este método no requeriría mayor inversión y sería aplicable en condiciones rurales.

El presente trabajo tuvo como objetivo comparar la capacidad productiva y el grado de contaminación obtenidos al cultivar *P. ostreatus* sobre un sustrato preparado de tres maneras diferentes (composteo, pasteurización por vapor e inmersión alcalina). Para ello, se aumentó la masa y el volumen de sustrato por compostear, con relación al trabajo de Hernández *et al.* (2003) con el fin de asegurar condiciones homogéneas de pasteurización en todo el lote. Posteriormente se evaluó la capacidad de producción de tres cepas de *P. ostreatus* en un sustrato pasteurizado por composteo.

Materiales y métodos

Material biológico

Se utilizaron las cepas *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., WC-814, WC-816 y WC-819 (respectivamente ECS-1121, ECS-1122 y ECS-1123), cedidas gentilmente por V. Wilkinson, responsable de la colección micológica del Departamento de Fitopatología de la Universidad Estatal de Pennsylvania, EUA y la cepa *P. ostreatus* ECS-0152 (híbrido CP-50, Morales *et al.*, 1995) considerada como testigo por ser comercialmente utilizada en Chiapas. La propagación del

micelio se hizo en medio agar extracto de malta (Bioxon) y la preparación del inoculo se realizó siguiendo la metodología empleada por Quimio (2002), para lo cual se utilizaron granos de sorgo esterilizados a 121°C por 30 minutos.

Sustrato lignocelulósico

Se utilizó pasto Pangola (*Digitaria decumbens*), cortado a un tamaño de 2-2.5 cm de largo y cal hidratada comercial con 82% Ca(OH)₂, (Super Cal hidratada Grijalva, de Cales y Morteros del Grijalva, México).

Tratamientos del sustrato

Se aplicaron tres tratamientos diferentes al sustrato: pila autocalentada (o composteo incompleto), pasteurización con vapor e inmersión alcalina. Para la pila autocalentada se utilizaron 150 kg de pasto pangola hidratados al 60% y mezclados con 2% de cal hidratada, los cuales fueron colocados en un cajón de madera de tepemixtle (*Ocotea* sp.), de un metro cúbico con 48 agujeros de 0.5 cm en el fondo y una tapa de la misma madera, con una chimenea de PVC de 8 cm de diámetro y 10 cm de altura en el centro. A diferencia de Hernández *et al.* (2003) la duración del composteo fue sólo de dos días. Se aplicó el mismo método de evaluación por niveles, que consistió en dividir imaginariamente el sustrato contenido en el cajón en tres lotes (a 33.3 cm debajo de la superficie (nivel tres), al centro (nivel dos) y 33.3 cm encima del fondo de la masa en proceso (nivel uno). A las 24 h del proceso se removió todo el sustrato, nivel por nivel, poniendo la masa de cada lote dentro de una máquina mezcladora MC-50 (Maquinaria Agropecuaria HML, Xalapa, Ver.) y al final de la remoción se cambiaron los niveles de posición, de tal manera que el sustrato que inicialmente estaba en el nivel inferior pasó al de en medio, el de en medio arriba y el de arriba al inferior.

En el método de pasteurización por vapor se utilizaron 50 kg de pasto pangola con 60% de humedad y mezclado con 2% de cal hidratada, a los cuales se les

suministró vapor de agua con un generador de vapor (Sterilisateur Marca Webeco GMBH, Alemania), durante una hora a 90°C. El tratamiento por inmersión alcalina se llevó a cabo según lo describen Contreras *et al.* (2004), para lo cual se utilizaron 20 kg de pasto pangola sumergidos en 100 L de agua con 2% de cal hidratada durante 48 h. Después de la inmersión, el sustrato fue drenado en bandejas perforadas y secado al aire hasta alcanzar un contenido en humedad de 60%.

Método de cultivo

El sustrato fue inoculado con 2.5% de semilla de *P. ostreatus* con la mezcladora mencionada anteriormente. Inmediatamente después de efectuar la siembra se colocaron lotes de 3 kg de sustrato inoculado en bolsas de polietileno de 40 x 60 cm las cuales fueron cerradas con un nudo e incubadas a 24°C durante 15 días. A las 24 h de incubación se perforaron las bolsas, de manera aséptica, aproximadamente 70 orificios con una aguja estéril. Terminada la incubación, los bloques de sustrato colonizado fueron pasados al cuarto de fructificación, en donde se les retiró la bolsa de polietileno y fueron colocados en anaqueles a 85±5% de humedad, 22±1°C de temperatura, iluminación natural y ventilados con un enfriador de aire marca Arctic Circle modelo R-28-CR, que mantuvo una concentración máxima de 800 ppm de CO₂, (medidos con un determinador de CO₂ portátil marca Telaire modelo 7000). Ahí permanecieron los bloques hasta la obtención de tres cosechas (50-69 días). Los carpóforos fueron cosechados cuando el estípite se encontraba totalmente erguido y el píleo horizontal, a su máxima extensión.

El sustrato preparado en los cajones de composteo fue dejado enfriar a temperatura ambiente y cada nivel del sustrato (1, 2 y 3) fue inoculado por separado e incubado de la misma manera descrita para los sustratos pasteurizados por vapor y por inmersión alcalina.

Ensayos realizados

Primeramente se preparó una pila de sustrato a la cual, después de dos días de composteo, se le sembró la cepa ECS-0152 con el fin de realizar una comparación de la productividad del sustrato contenido en cada uno de los tres niveles o secciones definidos anteriormente (Experimento E₁). En un segundo experimento (E₂), usando la misma cepa, se evaluó la producción de carpóforos y la incidencia de contaminantes en un sustrato composteado en comparación con los otros dos tratamientos descritos (inmersión alcalina y pasteurización) y por último, se realizó la evaluación de la producción de las tres cepas y el testigo (Experimento E₃).

Toma de muestra y parámetros a medir

Para determinar el potencial de hidrogeno (pH) y la humedad del sustrato, se tomaron 15 g de muestra, de la siguiente forma: a) al sustrato húmedo antes de procesarlo (pasto pangola), b) en el composteo, en cada uno de los niveles (1, 2 y 3), en dos momentos del proceso: durante la remoción/rotación de niveles y antes de la siembra; c) en el caso de la pasteurización por vapor y la inmersión alcalina (una sola vez, después del tratamiento, antes de la siembra del hongo).

La humedad relativa se midió con la ayuda de un termo-higrómetro digital marca Oakton modelo 35612-10, Vernon Hills, Illinois, mientras que la humedad del sustrato fue determinada colocando 5 g de muestra en una termobalanza Moisture analyzer A&D M.F. 50, Tokio.

Para determinar el potencial de hidrógeno, se suspendieron 10 g de muestra en 25 ml de agua destilada, se dejaron en reposo durante 20 min y se determinó el pH con un potenciómetro pH/ISE meter modelo 710A marca Orion. Las lecturas de temperaturas fueron efectuadas con un termómetro de mercurio. Para la pasteurización con vapor se monitoreó la totalidad del tratamiento (60 min), para lo cual se introdujo un termómetro a un costado del cajón en el centro, así como para el método de inmersión. En el caso del

composteo se tomaron lecturas cada 3 h durante los dos días de duración del proceso, en tres partes, sobre el lado frontal del cajón y a la profundidad del termómetro (30 cm): 1) a 15 cm abajo de la superficie superior, 2) al centro y 3) a 15 cm por encima del fondo de la masa en proceso). Cada vez que se tomaron estas lecturas, también se tomaron los valores de temperatura y humedad ambiental del lugar donde se realizó el experimento.

La Eficiencia Biológica (EB) fue estimada mediante la relación que se obtiene de dividir el peso de los hongos frescos cosechados entre el sustrato seco utilizado y multiplicado por cien (Royse, 1985), la Tasa de producción (TP) se determinó dividiendo la EB entre el número de días necesarios para obtener tres cosechas (Royse, 1985) y el Rendimiento (R) se determinó por medio del cociente obtenido al dividir el peso seco de hongos cosechados entre el peso seco del sustrato utilizado.

Contaminación

La incidencia de contaminantes fue determinada visualmente al finalizar la colonización del sustrato (15 d después de la siembra) por el micelio de *P. ostreatus*. Se hizo un recuento del número de muestras contaminadas por cada tratamiento y se estimó el porcentaje del área contaminada en relación con la superficie total colonizada para cada uno de ellos y se expresó como promedio. La identificación de contaminantes fue realizada con ayuda de las claves de Barnett y Hunter (1998).

Pigmentación y tamaño del carpóforo

Se evaluó de forma visual el color presentado por cada cepa, en etapa de primordios y en punto de cosecha, como referencia se utilizó el Atlas de colores de Küppers (2002). Se determinó el tamaño promedio de los carpóforos a la primera cosecha de cada cepa al dividir el peso (g) entre el número de carpóforos cosechados.

Diseño del experimento y análisis estadístico

Se utilizó un arreglo completamente al azar con 10 repeticiones por tratamiento o nivel. Se realizó una prueba de separación de medias por el método de Tukey, para lo cual se utilizó el programa JMP 7.0.1 (SAS, 2007). Los datos de temperatura, pH y humedad fueron determinados mediante el promedio de las tres pilas de composta realizadas.

Resultados

Evolución de la composta

Temperatura

En la Figura 1 se muestra el comportamiento de la temperatura del sustrato, en sus tres niveles, durante las 51 h de composteo. De un valor inicial de 26° C, similar a la temperatura ambiental, fue incrementándose conforme transcurría el tiempo, hasta llegar a alrededor de 53-58° C a las 21 h. En ese momento se hizo la remoción del sustrato y la reubicación de los niveles, lo que hizo descender la

temperatura momentáneamente hasta alrededor de 35°C. Posteriormente, la temperatura volvió a incrementarse hasta alcanzar alrededor de 68-70°C, a las 48 h de composteo. La temperatura comenzó a descender después, momento en que se detuvo el proceso, para enfriar el sustrato y proceder a prepararlo para la siembra. El análisis estadístico mostró una diferencia estadística de la temperatura en función del tiempo ($p=0.0001$), pero no así entre niveles, que fueron considerados iguales ($p=0.092$). La humedad relativa y la temperatura ambiental en el sitio donde se realizó el experimento oscilaron alrededor de $25\pm 2^\circ\text{C}$ y entre 80-90% de humedad.

pH y humedad

En cuanto al pH, de un valor inicial de 9.3 ± 0.09 descendió al cabo de dos días a 7.4 ± 0.07 . El análisis estadístico no mostró diferencia significativa entre niveles ($p=0.855$) y el análisis de regresión de los datos mostró una línea con pendiente negativa, con ecuación $y = -0.8712x + 9.9776$; $r^2 = 0.906$ sugiriendo una disminución del pH en el transcurso del

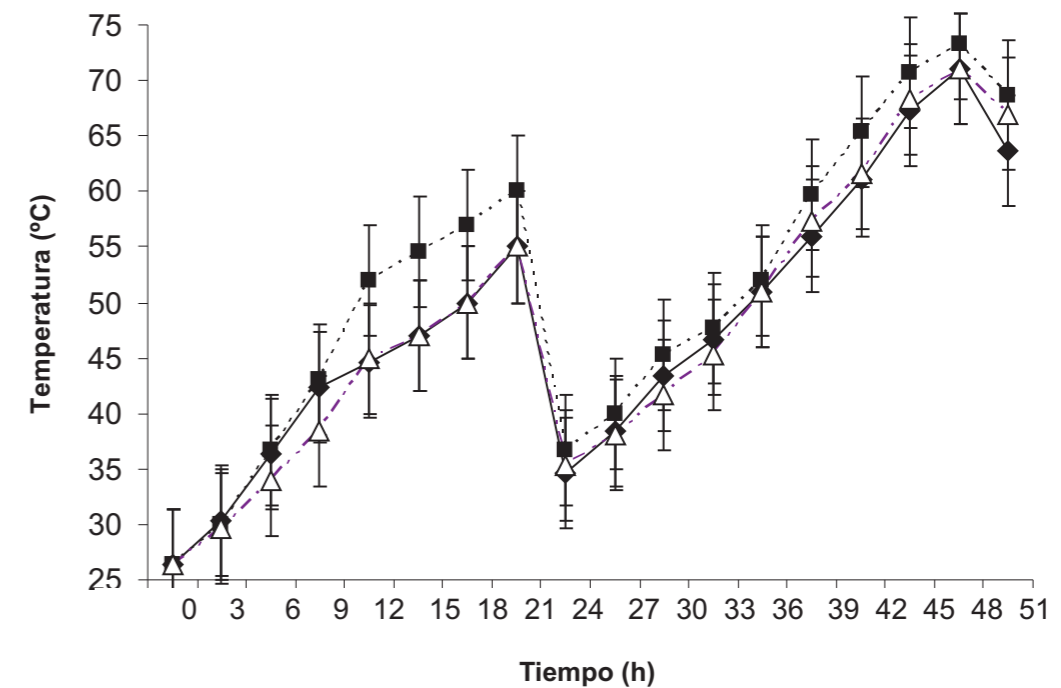


Figura 1. Variación de la temperatura durante el proceso de composteo en los tres niveles definidos de sustrato (15 cm debajo de la superficie, al centro y a 15 cm por encima del fondo de la masa en proceso). Nivel 1 \blacktriangledown Nivel 2 \blacksquare Nivel 3 \triangle

tiempo.

El contenido de humedad del sustrato durante el composteo, al inicio tenía un promedio de $56 \pm 0.1\%$ y 51 h después, al terminar la composta, tenía $55 \pm 0.3\%$, el análisis estadístico no mostró diferencia por causa de la humedad en el sustrato. El análisis de regresión de los datos presentó una tendencia con pendiente negativa $y = -0.3061x + 56.157$; $r^2 = 0.99$ sugiriendo también que la humedad disminuye en el transcurso del tiempo.

La Tabla 1 presenta los valores de EB, TP y R obtenidos en cada uno de los tres niveles en que se subdividió la masa que se composteó. Esos valores variaron entre 91.4 y 117.2% (EB), 1.36 y 1.77% (TP) y 0.12 y 0.16 (R), respectivamente. El análisis estadístico no reveló ninguna diferencia significativa entre niveles ($p=0.09$).

Comparación de tratamientos

La Tabla 2 presenta los valores promedio de eficiencia biológica, tasa de producción y rendimiento obtenidos con el sustrato después de haber sido aplicados los tres diferentes tratamientos evaluados (composteo, pasterización por vapor e inmersión alcalina). El análisis estadístico separó dos grupos considerados estadísticamente diferentes ($p=0.0007$). En el grupo A quedaron clasificados como similares el método de composteo (EB=112%, TP=1.87% y R=0.16) y el método de pasterización por vapor (EB=102%, TP=1.85% y R=0.15) y en el grupo B, la inmersión alcalina con una EB, TP y R de 62%, 1.07% y 0.10, respectivamente.

Tabla 2. Eficiencia biológica (EB), tasa de producción (TP) y rendimiento (R) de la cepa ECS-0152 cultivada sobre pasto pangola con 2% de calhidra como sustrato, tratado por tres diferentes métodos de control microbiano

Tratamientos	Eficiencia Biológica (%)	StDev	Tasa de Producción	Rendimiento
Composteo	112 a	33.60	1.87 a	0.16
Pasteurización con vapor	102 a	05.56	1.85 a	0.15
Inmersión alcalina	62 b	19.59	1.07 b	0.10

Letras iguales en una misma columna indican que no hay diferencia significativa entre tratamientos a un nivel $\alpha = 0.05$.

Tabla 1. Eficiencia biológica (EB), tasa de producción (TP) y rendimiento obtenidos con la cepa *P. ostreatus* ECS-0152, en los tres niveles de sustrato obtenidos de la pila de composta de pasto Pangola

Niveles	Eficiencia Biológica	StDev	Tasa de Producción	Rendimiento
1	91.4 a	25.16	1.43	0.13
2	117.2 a	24.26	1.77	0.16
3	94.2 a	27.24	1.36	0.12

Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencia significativa entre tratamientos ($\alpha=0.05$).

Contaminación observada durante la incubación

La colonización de *P. ostreatus* fue similar para los tres tratamientos. La incidencia de contaminantes fue de 6% para el método de composteo y la pasteurización por vapor, mientras que para la inmersión alcalina fue de 13%. El análisis estadístico no encontró diferencia significativa entre tratamientos ($p=0.539$). El único contaminante presentado fue *Trichoderma* sp.

Evaluación de la producción de cuatro cepas de *P. ostreatus*

En la Tabla 3 se presenta la eficiencia biológica, la tasa de producción y el rendimiento de las tres cepas evaluadas ECS-1121, ECS-1122 y ECS-1123 en comparación con el testigo ECS-0152. Los valores variaron entre 103 y 110% (EB), 1.73 y 1.89 % (TP) y 0.17 y 0.21 (R). El análisis estadístico no encontró diferencias estadísticas entre ellas ($p=0.93$).

Pigmentación de primordios y carpóforos maduros

Bajo las condiciones de crecimiento de este experimento, la cepa ECS-0152 (considerada como testigo) presentó primordios de color blanco. Conforme fue creciendo, el aspecto cambió a una tonalidad blanco-crema en el carpóforo en punto de cosecha. La cepa ECS-1121, en sus primordios mostró una tonalidad grisácea (N20,V10,M10) según el código de colores de Küppers (2002) (Tabla 3), mientras que sus carpóforos en punto de cosecha tuvieron un tono gris azulado (N20,C30,Y00). El color de los primordios de la cepa ECS-1122 fue más fuerte que el de la cepa ECS-1121 porque presentó un tono gris medio (N70,C50,Y00) y los carpóforos maduros un tono arena verde (N20,V10,N10). Por último la cepa ECS-1123, desarrolló primordios de un gris fuerte (N20,V10,M10), y el color en sus carpóforos maduros presentó una tonalidad arena (N20, C20, Y00).

Tamaño de carpóforos

El tamaño de los carpóforos a la primera cosecha fue de 7.94 ± 4.1 , 10.4 ± 6.2 , 13.07 ± 5.98 y 7.1 ± 3.7 g/carpóforo para las cepas ECS-1121, ECS-1122, ECS-1123 y ECS-0152, respectivamente. El análisis estadístico no mostró diferencia significativa entre cepas.

Discusión

En el presente trabajo se hizo una comparación de tres tratamientos utilizados para disminuir la carga microbiana de

la materia prima que se utiliza para cultivar el hongo comestible *P. ostreatus* y se evaluó la capacidad productiva de tres cepas de esta misma especie usando como técnica de preparación el composteo de la materia prima. Esta evaluación incluyó la comparación de dichas cepas con la cepa *P. ostreatus* ECS-0152, considerada como testigo porque es una de las cepas comerciales más utilizadas en Chiapas. De acuerdo a los resultados aquí presentados se puede decir lo siguiente:

Bajo las condiciones de humedad y temperatura ambiental del presente experimento y utilizando un cajón de madera de 1 m^3 con 150 kg de pasto pangola con 2% de cal hidratada y 60% de humedad, es posible utilizar el tratamiento de composteo durante dos días como forma de pasteurización para proporcionar a la totalidad del sustrato, un tratamiento homogéneo y suficiente, libre de organismos nocivos, que permita la propagación del micelio y obtener fructificaciones de *P. ostreatus*. Este tratamiento permite obtener EB's aceptables comercialmente (91-117%) en tres cosechas. Estos valores son comparables a los obtenidos por otras técnicas de protección (pasteurización con vapor e inmersión alcalina) también utilizadas comercialmente en el Estado (Sántiz, 2007).

Las experiencias de composteo realizadas en el presente trabajo trataron de reunir condiciones de temperatura-tiempo, pH y humedad acordes con indicaciones de autores como Stolzer y Grabbe (1991) y Overtijns (1981), quienes indicaron que las temperaturas medias son mejores

Tabla 3. Eficiencia biológica, tasa de producción y rendimiento de cuatro cepas de *P. ostreatus* y pigmentación presentada durante la etapa de primordios y punto de cosecha

Cepas	Eficiencia Biológica (%)	StDev	Tasa de Producción	R	Pigmentación	
					Primordios	Carpóforos maduros
ECS-1121	103 a	34.02	1.73	0.17	N ₆₀ ,C ₀₀ ,Y ₀₀	N ₂₀ ,Y ₁₀ ,M ₁₀
ECS-1122	113 a	37.86	1.89	0.19	N ₄₀ ,C ₄₀ ,Y ₀₀	N ₂₀ ,Y ₂₀ ,M ₁₀
ECS-1123	110 a	24.56	1.84	0.21	N ₇₀ ,C ₅₀ ,Y ₀₀	N ₅₀ ,Y ₁₀ ,M ₁₀
ECS-0152	103 a	20.25	1.73	0.17	Blanco	N ₀₀ ,Y ₀₀ ,M ₀₀

R= rendimiento

que las altas para disminuir la incidencia de organismos contaminantes durante el proceso de cultivo y que se requirieron 5 h a 55°C para destruir la mayoría de moscas y nemátodos y 6 h a 60°C para destruir la mayoría de mohos verdes que puedan estar presentes en la materia prima. Por esta razón, dado el perfil de temperatura de la composta estudiada, en el cual se alcanzaron temperaturas superiores a 55°C por 5 h y en algunas partes 70°C probablemente contribuyó a eliminar la biota susceptible de interferir con el desarrollo de *P. ostreatus* y poner en riesgo la selectividad del sustrato. Es posible que masas y volúmenes mayores de sustrato permitan alcanzar temperaturas superiores, las cuales, mediante un composteo adecuado podrán también asegurar el tratamiento homogéneo del sustrato (Samp, 2007).

Las condiciones de temperatura ubican al lugar donde se efectuó el experimento como típico de ambientes tropicales (24-27°C, 75-90% de humedad), por lo que el replicar este tratamiento en otros sitios requerirá de pruebas preliminares, dada la relación que existe entre las condiciones del sustrato (materia prima, masa, pH, humedad, etc) y las condiciones del ambiente circundante con respecto del desarrollo de la microbiota y la temperatura de la pila.

Bajo las condiciones evaluadas, el crecimiento de las cepas estudiadas fue satisfactorio, toda vez que los sustratos fueron colonizados totalmente, aunque la presencia de contaminantes observada (6-13%) es un punto de oportunidad para optimizar el método. Así, el contaminante observado *Trichoderma* sp., el más común en los cultivos de setas en México ya ha sido reportado en la región (López *et al.*, 1996). Los resultados que aquí se presentan confirman los obtenidos por Villa Cruz *et al.* (1999) y Hernández *et al.* (2003) quienes indicaron que el aprovechamiento adecuado de la temperatura autogenerada naturalmente por la pila de composta podría ser utilizada para pasteurizar el sustrato sin necesidad de recurrir a otro tratamiento adicional.

Es de hacer notar que los resultados obtenidos con el

método de inmersión alcalina (62%) fueron inferiores a los reportados por Contreras *et al.* (2004). Estos autores reportaron valores de EB de 60-126% en diferentes sustratos. Seguramente que la calidad de la materia prima utilizada en ambas condiciones fue diferente, además de que ellos trabajaron con una humedad del 70%, mientras que en este experimento, la humedad del sustrato fue de 60%.

Las tres cepas evaluadas en este trabajo dieron valores de eficiencia biológica comparables entre sí y con el testigo (ECS-0152), lo que las ubica como potencialmente adecuadas para ser utilizadas en el cultivo comercial de setas en la región. Los valores de rendimiento observados (0.17-0.21) son relativamente más altos que los reportados por Hernández Ibarra *et al.* (1995) (0.103 y 0.109) para una cepa de *P. djamor* y una de *P. ostreatus*, respectivamente; aunque es notorio que los valores de tasa de producción (1.73-1.89 %) son relativamente más bajos que los reportados (2.09 y 2.21) para las cepas probadas por dichos autores. Las cepas aquí estudiadas presentaron un tamaño de píleo de mediano a grande y es de hacer notar que la tonalidad entre ellas fue diferente, lo que representa una potencial diversificación de la oferta para el cultivador. Así, se observaron variaciones importantes en la coloración de los cuerpos fructíferos durante su desarrollo -desde el estado de primordio hasta la madurez- que corroboran lo enunciado por Eger *et al.* (1974), Karma y Zadrazil (1986) en el sentido de que la iluminación afecta el color que presentan los carpóforos. Esto es un tema para futuras investigaciones que redunden en mejoras a los procedimientos de cultivo.

Finalmente, se resalta que la cepa ECS-1123 presentó carpóforos estadísticamente iguales que la cepa testigo en la primera cosecha y que su coloración clara (arena) en punto de cosecha puede ser atractiva para la mayoría de los productores, en razón que el mercado exige cepas blancas, aún cuando la coloración de esta cepa en estado de primordio fue la más oscura de todas.

Literatura citada

- Barnett H.L., B.B. Hunter, 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. ASP Press. St Paul, Mn.
- Contreras, E.P., M. Sokolov, G. Mejía, J.E. Sánchez, 2004. Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 79(2):234-240.
- De León-Monzón, J.H., J.E. Sánchez, J. Nahed-Toral, 2004. El cultivo de *Pleurotus ostreatus* en los Altos de Chiapas, México. Revista Mexicana de Micología 18:31-38.
- Eger, G., H.D. Gottwald, U.V. Netzer, 1974. The action of light and other factors on sporophore initiation in *Pleurotus ostreatus*. Mushroom Science 9:575-583.
- Hernández, D., J.E. Sánchez, K. Yamasaki, 2003. A simple procedure for preparing substrate for *Pleurotus ostreatus* cultivation. Bioresource Technology 90:145-150.
- Hernández-Ibarra, H., J.E. Sánchez-Vázquez y L.A. Calvo Bado, 1995. Estudio de 5 cepas nativas de *Pleurotus* spp. de la región de Tapachula, Chiapas, México. Revista Mexicana de Micología 11: 29-38.
- Karma, D.N., F. Zadrazil, 1986. Influence of gaseous phase, light and substrate pretreatment on fruit body formation, lignin degradation and in vitro digestibility of wheat straw fermented with *Pleurotus* sp. Agricultural Wastes 18:1-17.
- Küppers, H. 2002. Atlas de colores. 1ª Ed. en lengua española. Blume. Barcelona.
- López, A., G. Huerta Palacios, J.E. Sánchez, 1996. Contamination encountered during various phases of cultivation of *Pleurotus ostreatus* in Tropical Mexico. In: Royse D. (ed.), Proceed. II. Int. Conf. on Mushroom Biology and Mushroom Products. Pennsylvania State University, Penn, pp. 495-502.
- Muez Ororbía, M.A., J. Pardo Núñez, 2002. La preparación del sustrato. In: Sánchez-Vázquez, J.E., D. J. Royse (eds), La Biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. El Colegio de la Frontera Sur/ Ed. Limusa, S.A. de C.V., México, D.F., pp.157-186.
- Overtijns, A. 1981. The conventional phase 2 in trays or shelves. Mushroom Journal 97:5-17.
- Quimio, T.H., 2002. Preparación de semilla. In: Sánchez-Vázquez, J.E., D.J. Royse (eds.), La Biología y el Cultivo de *Pleurotus* spp. El Colegio de la Frontera Sur/ Ed. Limusa, S.A. de C.V. México, D.F., pp. 141-156.
- Royse D.J. 1985. Effect of shawn run time and substrate nutrition on yield and size of the shiitake mushroom. Mycologia 77(5):756-762.
- SAS Institute, 2007. JMP 7.0.1. Statistical discovery software. SAS Campus Drive Cary, NC 27513, USA.
- Samp, R., 2007. Desarrollo de sistemas de procesamiento de composta para el champiñón *Agaricus bisporus*. In: Sanchez J.E., D.J. Royse, H. Leal Lara (eds.) El cultivo de setas *Pleurotus* spp. en México. El Colegio de la Frontera Sur, Tapachula, pp. 49-56.
- Sántiz, J.A., 2007. El cultivo rústico de *Pleurotus ostreatus* en Chiapas, México. In: Sánchez Vázquez J.E., D. Martínez Carrera, G. Mata, H. Leal Lara (eds.). El cultivo de setas *Pleurotus* spp en México. El Colegio de la Frontera Sur, Tapachula, pp.143-148.
- Stolzer, S., K. Grabbe, 1991. Mechanisms of substrate selectivity in the cultivation of edible fungi. Mushroom Science 13:141-145.
- Villa-Cruz, V., G. Huerta-Palacios, J.E. Sanchez-Vázquez, 1999. Fermentation of a mixture of corn-cobs and coffee pulp for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. Micología Neotropical Aplicada 12: 67-74.